

# Yeast Protein Extraction Reagent (酵母总蛋白质提取试剂)

TaKaRa Code : D701

包装量 : 500  $\mu$ l $\times$ 5

Shipping at -20°C  
Stored at 4°C

## ●制品说明

本制品是一种简洁、快速的提取酵母菌总蛋白质的试剂。该试剂在适当的温度下能够去除酵母菌的细胞壁，从而形成原生质体，释放细胞内的蛋白质，达到快速提取蛋白质的目的。使用本制品可以避免玻璃珠研磨、超声波处理或压榨法等传统的机械式操作。本制品适用于毕赤酵母、酿酒酵母以及假丝酵母等大多数酵母菌的蛋白质提取。使用本制品提取的酵母蛋白质纯度高、收量大，适合于蛋白质的电泳检测等后续实验。

## ●制品内容

组份名称	包装量
Yeast Protein Extraction Reagent*	500 $\mu$ l $\times$ 5

\* 制品中含有酵母破壁酶，使用后请立即置于4°C保存。不可在4°C以上环境下长期存放。

## ●实验操作

- 取1~5 $\times$ 10<sup>6</sup>的液体酵母菌细胞至1.5 ml的Microtube中，8,000 g，4°C离心2分钟。
  - 小心除去上清，向沉淀中缓慢加入1 ml 冰预冷的dH<sub>2</sub>O，用移液枪轻轻反复吹打，使沉淀重悬。
  - 8,000 g，4°C离心2分钟。小心除去上清，尽量除净液体。
  - 向沉淀中加入25  $\mu$ l的Yeast Protein Extraction Reagent，用移液枪轻轻反复吹打，使沉淀重悬。
  - 放入30°C水浴中温浴30分钟以上，期间轻轻振荡离心管1~2次。以下操作，可按6a或6b进行。
  - 将离心管从30°C水浴中取出，加入25  $\mu$ l的2 $\times$ Protein SDS PAGE Loading Buffer ( TaKaRa Code : D620 )，漩涡振荡2分钟，使沉淀重悬。
  - 将离心管从30°C水浴中取出，12,000 g，4°C离心5分钟。小心除去上清，再向沉淀中加入25  $\mu$ l的PBS溶液、25  $\mu$ l的2 $\times$ Protein SDS PAGE Loading Buffer ( TaKaRa Code : D620 )，漩涡振荡2分钟，使沉淀重悬。
- \* Yeast Protein Extraction Reagent中含有酵母菌破壁酶，可能会对一些蛋白质的电泳检测有影响，因此可以先将Yeast Protein Extraction Reagent除去后再进行电泳。
- 取12.5  $\mu$ l上述6a或6b的悬浊液到新的1.5 ml Microtube中，在100°C条件下温浴10分钟后取10  $\mu$ l进行电泳检测。

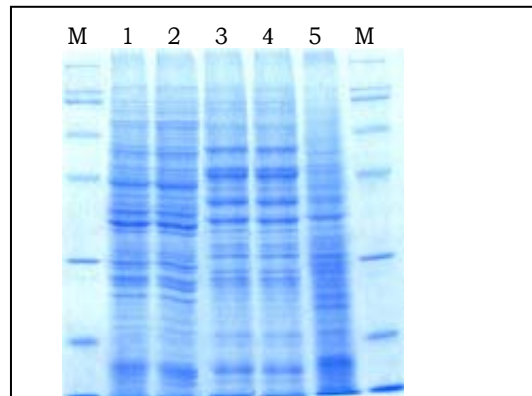
## ●实验例

### 1. 实验方法。

分别取 OD<sub>600</sub>≈ 0.2 的 *Pichia* ( GS115 strain, X33 strain )、*Saccharomyces* ( AH109 strain, Y187 strain )、*Candida* ( Tropicalis strain ) 液体培养液，离心收集菌体后使用本试剂提取蛋白质。

### 2. 实验结果。

提取的各种酵母菌蛋白质含量达到 2.5 mg/ml，提取的蛋白质分子量大小分布在 20 KDa~200 KDa 之间。结果见右图。



【1/5 提取液，12.5% SDS-PAGE 电泳确认】

M : Protein Molecular Weight Marker ( Broad )

- GS115 菌株
- X33 菌株
- AH109 菌株
- Y187 菌株
- Tropicalis 菌株

## ●Troubleshooting

1. Yeast Protein Extraction Reagent是否对所有酵母菌都适用？一般情况下，Yeast Protein Extraction Reagent适用于所有对酵母菌破壁酶敏感的酵母菌细胞的Protein提取。我们使用本制品对 *Pichia* ( GS115、X33 )、*Saccharomyces* ( Y187、AH109 ) 以及 *Candida* ( Tropicalis ) 进行了蛋白质的成功提取。下表是文献中报道的利用Yeast Protein Extraction Reagent能够成功裂解酵母菌细胞壁的菌种一览表。

菌种名称	
1. <i>Shizosaccharomyces</i>	10. <i>Graphioli phoenicis</i>
2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11. <i>Brettanomyces bruxellensis</i>
3. <i>Hansenula marakii</i>	12. <i>Candida colliculosa</i>
4. <i>Kluyveromyces lactis</i>	13. <i>Tremella mesenterica</i>
5. <i>Pichia anomala</i>	14. <i>Candida utilis</i>
6. <i>Lipomyces starkeyi</i>	15. <i>Kloeckera apiculata</i>
7. <i>Filobasidium floriforme</i>	16. <i>Trigonopsis variabilis</i>
8. <i>Ustilago maydis</i>	17. <i>Cryptococcus albidus</i>
9. <i>Rhodospiridium toruloides</i>	18. <i>Phaffia rhodozyma</i>

### 2. 细胞不能完全裂解？

细胞数量太多会导致裂解液不能完全裂解细胞。如果初始加入的细胞过多会使反应液变得十分粘稠，而细胞则会聚集成团，使裂解作用不充分。在此种情况下可以将Yeast Protein Extraction Reagent的量加倍，以达到完全裂解的效果。

### 3. 蛋白质提取量较低，怎么办？

① 细胞未能完全裂解。一般来说，每25  $\mu$ l的Yeast Protein Extraction Reagent可以对1~5 $\times$ 10<sup>6</sup>的细胞进行裂解，得到约2.5 mg/ml的酵母菌蛋白质。如果加入的细胞数量过多，会造成蛋白质提取量下降。如果菌体量增加，请相应增加裂解用的Yeast Protein Extraction Reagent的使用量。

② 菌体不新鲜。提取用菌体的OD<sub>600</sub>值超过对数生长期会造成提取蛋白质的量和质发生变化，一般建议在酵母菌的对数生长期时收集菌体，进行蛋白质提取，此时效果较佳。